

t 厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業）
化粧品中の微量不純物の分析法と実態調査に関する研究
分担研究報告書（平成 26 年度）

化粧品中に不純物として含まれる金属の分析に関する研究

研究分担者 秋山卓美 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長

研究要旨：

水銀は強い毒性を持つため、米国とカナダでは化粧品の最終製品中の含量が規制され、化粧品規制協力国際会議（ICCR）でも最終製品中の含量で規制すべきとの勧告がなされる可能性がある。今後国際的な対応のためには分析法の開発や規制値設定の根拠となるデータ収集が必要で、製造事業者等が自ら試験を行えるように簡便な試験法に改良する必要もある。今年度は簡便な方法で調製した試験溶液を ICP 発光分析装置で分析できるかどうか検討した。硝酸溶液と混合する方法を用いて調製した検液について ICP 発光分析を行うことにより、Hg の検出ができることが示された。化粧水をモデル製品として使用したところ、製品により Hg の発光が増強され、高感度に検出できる場合があった。この特徴により、定量は標準添加法に限られることが判明した。国内で製造される 6 種の化粧水について標準添加法で定量したところ、5 製品については Hg 含量は非常に小さかったが、1 製品で ICCR Traces WG の勧告で設定している 1 ppm を超える結果となった。

A. 研究目的

日米欧カナダの化粧品規制当局及び業界団体から成る化粧品規制協力国際会議（ICCR）の微量汚染物ワーキンググループ（Trace WG）は、ヒトでの安全性を第一に科学的なリスクアセスメント、品質管理、達成可能性、及び適切な分析法を考慮し、製品中の微量汚染物、鉛、1,4-ジオキサン及び水銀の許容限度値の設定に向けて議論を進めている。

水銀は様々な化学種（元素、無機及び有機化合物）で存在するが、無機水銀は腎臓、元素水銀及び有機水銀は中枢神経に対し特に強い毒性を示す。米国とカナダでそれぞれ 1 ppm、3 ppm という規制値が色素原料及び最終製品に設けられ、欧州と日本では意図的な配合を禁止している。日本では水銀化合物を化粧品に成分として配合することが禁止、医薬部外品原料規格として総重金属量を 20 ppm 未満としており、原料の品質管理に

よって最終製品の品質が確保されることとしていたため、水銀のみについて最終製品に対して規制という考えがなかった。しかし、化粧品のようなグローバルに展開される製品は、地球規模の国際的対応が求められ、最終製品でのチェックや個々の有害金属の精密分析が重要となる。今後国際的な対応のためには分析法の開発や規制値設定の根拠となるデータ収集を行う必要があり、製造事業者等が自ら試験を行えるように試験法に改良を行うことも必要である。

昨年度は、ICCR に参加して情報収集するとともに、近年の水銀分析法や化粧品中の濃度やヒトにおける曝露に関して文献調査を行った。ICCR では、文書の最終化に向けて検討中であるが、Traces WG の勧告に従って化粧品の最終製品において 1 ppm（総水銀換算）に相当する濃度未満に維持されるべきとの勧告がなされる可能性もあることがわかった。近年の化粧品中の水銀に関する報告につ

いて調査した結果、水銀に関しては不検出が多いが、口紅やハーブ化粧品では WHO 基準を超えて含有される製品が存在した。また、美白クリーム製品で 10^4 ppm レベルの違反製品が報告されていた。

今年度は既報告を参考に調製した試験溶液を ICP 発光分析装置で分析できるかどうか検討する。特に 1 ppm の Hg を定量出来るかどうか検討する。

B. 研究方法

1. 試薬および試料

金属標準原液は関東化学製の約 1000 ppm 標準溶液を使用した。濃度は Hg : 1001 ppm、As : 1006 ppm、Cd : 999 ppm、Co : 1006 ppm、Cr : 1006 ppm、Ni : 1000 ppm、Pb : 1006 ppm である。内部標準物質として用いたイットリウムは SCP Science 製 100 ppm 溶液である。

硝酸は和光純薬工業製超微量分析用硝酸 (1.42) を超純水で希釈して使用した。

化粧品は国内で製造されている化粧水 A、B、C、D、E および F を用いた。

2. ICP 発光分析装置

日立ハイテクサイエンス社製 SPS7800 を使用した。装置のマニュアルに従って下記の 6 種類の測定を行った。定性モード分析 定量測定条件決定 DL および BEC 測定 絶対検量線法による定量測定 内部標準法による定量測定 標準添加法による定量測定。

定量測定における各金属の測定波長は Hg : 194.16 nm、As : 228.81 nm、Cd : 214.44 nm、Co : 228.62 nm、Cr : 283.56 nm、Ni : 221.65 nm、Pb : 220.35 nm、Y : 371.02 nm とした。

3. 標準溶液

硝酸 (1.42) (=69.3%) 87 mL と水 415 mL を混合して 12%硝酸を調製した。この 12%硝酸を用いて各金属標準原液を希釈して標準溶液とした。

4. 化粧品製品中からの検液調製

(1)方法 1

試料 1.0 g を正確に量り、添加回収試験では金属標準原液または標準溶液を加えた後、18 mL の 12%硝酸を加えて 10 分間の超音波処理を施し、25 mL に定容した。

(2)方法 2

試料 5.0 g を正確に量り、添加回収試験では金属標準原液または標準溶液を加えた後、15 mL の 12%硝酸を加えて 10 分間の超音波処理を施し、25 mL に定容した。

C. 研究結果

1. 水銀の検出下限および定量下限

本装置における水銀の検出下限および定量下限を検討した。ブランクの標準偏差の 3 倍を DL (Detection Limit) とし、BEC (Background Equivalent Concentration、バックグラウンド等価濃度) を求めて定量下限とすることとした。

ブランクとして水、標準液として 1 ppm Hg の 12%硝酸溶液を使用して測定したところ、DL = 0.035 ppm、BEC = 0.497 ppm であった。メソッドの定量下限は 1 ppm より小さいと考えられた。

2. 添加回収試験

化粧水 A を用いて添加回収試験を検討した。検液の調製は内野らの報告に従って行った。試料量は 1.0 g、添加濃度は製品中 25 ppm、検液中 1 ppm とし、絶対検量線法により検液中の Hg 濃度を求め、回収率を算出した。

表 1 に結果を示す。2 本試行し、いずれも約 700%となった。

3. 内部標準物質を用いた添加回収試験

検液の粘性が測定値に影響した可能性を考え、内部標準物質を共存させて添加回収試験を行った。試料量は 5.0 g とし、Hg 添加濃度を 1 ppm (検液中 0.2 ppm) または 0 ppm とした。Hg 標準溶液と Hg 添加検液にイットリウムを 1 ppm

添加し、内部標準法による定量測定を行った。

結果を表 2 に示す。回収率は約 650%となった。検液の粘性の影響はないと判明した。製品中の成分により発光が増強されている可能性が考えられた。

4. 7 種金属での検討

水銀の添加回収試験において見られた発光の増強が他の金属でも見られるか、化粧品中の含量が問題になることの多いヒ素、カドミウム、コバルト、クロム、ニッケルおよび鉛について検討した。試料量は 5.0 g とし、Hg、As、Cd、Co、Cr、Ni および Pb を 1 ppm 添加した。検液中ではいずれも 0.2 ppm である。

表 3 に結果を示す。Hg のみ回収率が 1,000% となり、他の金属は 100% 以下であった。発光の増強は Hg においてのみ見られることが判明した。

5. 6 種製品での検討

他の化粧水でも Hg の発光の増強が見られるか検討した。製品 A、B、C、D、E および F を 5.0 g ずつ用い、添加濃度は 1 ppm (検液中 0.2 ppm) とした。

表 4 に結果を示す。いずれの製品でも回収率は 100% を超えた。しかし、製品間で大きな差が見られた。増強効果は製品によって異なることが判明した。

6. 標準添加法による製品中水銀濃度の測定

製品により Hg の発光の増強効果が異なり、また、同一の製品でも検液調製のたびに増強効果が異なることがわかった。そこで、製品中の Hg 含有量測定を標準添加法を採用して測定した。試料量は 5.0 g とし、製品 A には 0、0.5、1.0、1.5 ppm (検液中それぞれ 0、0.1、0.2、0.3 ppm) の Hg を、製品 B、C、D、E および F には 0、0.25、0.50、0.75 ppm (検液中それぞれ 0、0.05、0.1、0.15 ppm) の Hg を添加した。

まず、製品 A について定量条件決定測定を行った。標準溶液として 2 ppm Hg、ブランクとして 12%硝酸、典型試料として 1 ppm の Hg を添加した製品 A の検液 (検液中 Hg 濃度 0.2 ppm) を用いた。図 1 に結果を示す。0.2 ppm の典型試料と 2 ppm の標準溶液のピーク高さがほぼ同じであり、発光の増強が起きていることがわかる。

次に製品 A に 0、0.5、1.0、1.5 ppm の Hg を添加して調製した検液について標準添加法による定量測定を行った。図 2 に検量線を示した。検量線の式は

$$\text{強度} = 7772 \times \text{濃度} + 156.9$$

であり、Hg を添加しない検液中の Hg 濃度は 0.020 ppm と計算された。したがって、製品 A 中の Hg 含量は 0.10 ppm である。

次に製品 B について定量条件決定測定を行った。標準溶液として 1 ppm Hg、ブランクとして 12%硝酸、典型試料として 0.75 ppm の Hg を添加した製品 B の検液 (検液中 Hg 濃度 0.15 ppm) を用いた。図 3 に結果を示す。0.15 ppm の典型試料のピーク高さが 1 ppm の標準溶液のそれより大きく、発光の増強が起きていることがわかる。

次に製品 B に 0、0.25、0.5、0.75 ppm の Hg を添加して調製した検液について標準添加法による定量測定を行った。図 4 に検量線を示した。検量線の式は

$$\text{強度} = 13558 \times \text{濃度} + 1.400$$

であり、Hg を添加しない検液中の Hg 濃度は 0.0001 ppm と計算された。したがって、製品 A 中の Hg 含量は 0.0005 ppm である。

製品 C、D、E および F について B と同様の測定を行った。図 5、7、9 および 11 に定量条件決定測定の結果を、図 6、8、10 および 12 に検量線を示す。製品中の Hg 濃度を表 5 に示す。製品 D では製品中含量が約 2 ppm であった。他の製品については Hg 含量は非常に低かった。

D. 考察

化粧品中の水銀濃度の測定法としては冷蒸気還元原子吸光法、冷蒸気還元原子蛍光法（CVAFS）などが挙げられるが、操作が煩雑である。一方、ICP 質量分析法（ICP/MS）により、美白クリーム中に意図的に配合された水銀を測定する方法が報告されている。ICP/MS は選択的定量法として優れているが、装置が高価であるため、普及させるのは困難である。

そこで、簡便な検液調製法を用いて調製した検液について、ICP 発光分析法で定量することを試みた。発光線により元素の識別が可能であるため、個別金属の選択的定量法として応用できる可能性もある。

はじめに定量下限を BEC として算出したところ、ICCR Traces WG の勧告で設定している 1 ppm より低いが、検液調製の際の希釈率を大きくできないことがわかった。

続いて、比較的多量に使用することが考えられ、簡便な調製法でも固形の妨害物質が生成しにくいと考えられる化粧水をモデル製品として検討した。はじめに添加回収試験を行ったところ、驚くべきことに標準溶液より大きいピークとして検出されることが分かった。

内部標準物質を用いても同様であったことから、調製した検液中に含まれる何らかの成分により発光が増強していると考えられた。さらに、他の化粧水では増強の程度が異なること、同じ化粧水でも調製する日が異なると増強の程度が異なることから、製品中の Hg 含量を求めるには標準添加法を行う必要があると考えられた。増強をもたらす成分の同定は今後の検討課題である。また、前処理法により影響を低減することが重要と考えられる。

6 種類の化粧水について標準添加法で定量を試みたところ、1 製品について約 2 ppm の Hg が含有されるとの結果を得た。しかし、図 7 に示すように、この製品は成分による発光の増強が小さ

いため、誤差が大きい可能性がある。より選択制の高い方法で再検討する必要がある。

E. 結論

硝酸溶液と混合する簡便な方法を用いて調製した検液について ICP 発光分析を行うことにより、Hg の検出ができることが示された。

化粧水をモデル製品として使用したところ、製品により Hg の発光が増強され、高感度に検出できる場合があった。この特徴により、定量は標準添加法に限られることが判明した。

国内で製造される 6 種の化粧水について標準添加法で定量したところ、5 製品については Hg 含量は非常に小さかったが、1 製品で ICCR Traces WG の勧告で設定している 1 ppm を超える結果となった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I. 参考文献

内野正, 五十嵐良明, 徳永裕司, 化粧品に配合が禁止されている成分の分析法に関する研究: 水銀, 国立医薬品食品衛生研究所報告, 125, 86-88 (2007).

表1. 添加回収試験(添加濃度検液中1 ppm相当).

検液	検液中濃度 (ppm)			回収率 (%)
	測定1	測定2	平均	
1	6.73	7.24	6.99	699
2	7.07	7.41	7.24	724

表2. 内部標準物質を使用した添加回収試験.

添加Hg濃度 (ppm)	検液中添加Hg濃度 (ppm)	検液中Hg濃度 (ppm)			回収率 (%)
		測定1	測定2	平均	
0	0	0.33	0.28	0.31	-
1	0.2	1.21	1.39	1.30	649

表3. 7種の金属の添加回収試験(添加濃度検液中0.2 ppm).

元素	検液中Hg濃度 (ppm)			回収率 (%)
	測定1	測定2	平均	
Hg	2.32	1.93	2.12	1061
As	0.18	0.16	0.17	86
Cd	0.18	0.18	0.18	90
Co	0.15	0.13	0.14	69
Cr	0.16	0.15	0.15	75
Ni	0.11	0.11	0.11	54
Pb	0.20	0.17	0.18	91

表4. 6種の製品における水銀の添加回収試験(添加濃度検液中0.2 ppm)

製品	検液中Hg濃度 (ppm)				回収率 (%)
	測定1	測定2	測定3	平均	
A	0.99	0.86	0.84	0.93	465
B	0.89	0.76	0.64	0.83	413
C	2.18	2.22	2.16	2.20	1100
D	0.30	0.44	0.40	0.37	185
E	2.36	2.34	2.25	2.35	1174
F	0.45	0.40	0.33	0.43	213

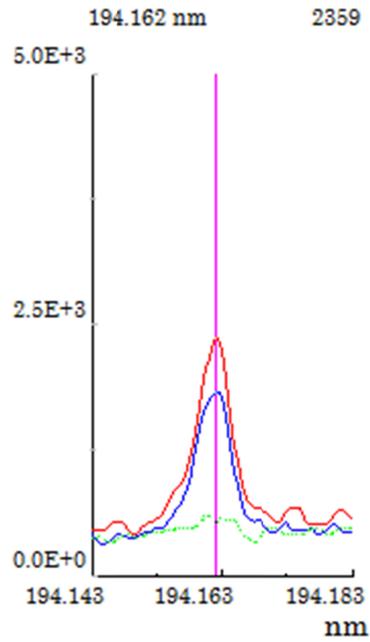


図 1 . 製品 A の定量条件決定測定 . 青線 : 標準溶液 , 緑線 : ブランク , 赤線 : 添加検液 .

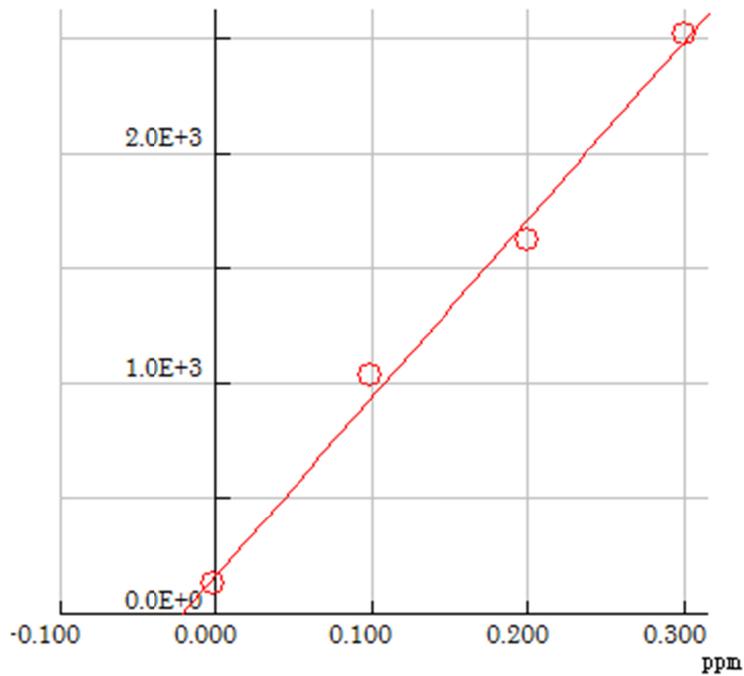


図 2 . 製品 A の検量線 . 式 : 強度 = 7772 × 濃度 + 156.9 .

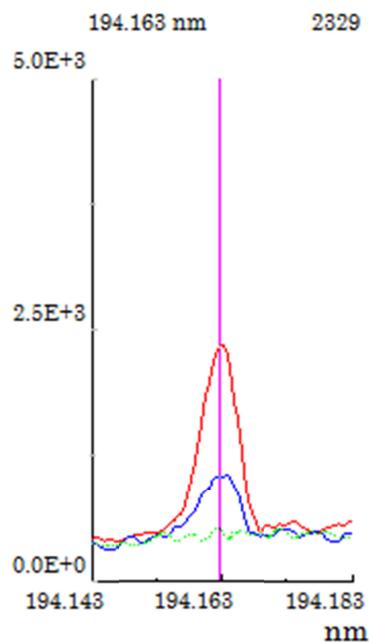


図 3. 製品 B の定量条件決定測定. 青線: 標準溶液, 緑線: ブランク, 赤線: 添加検液.

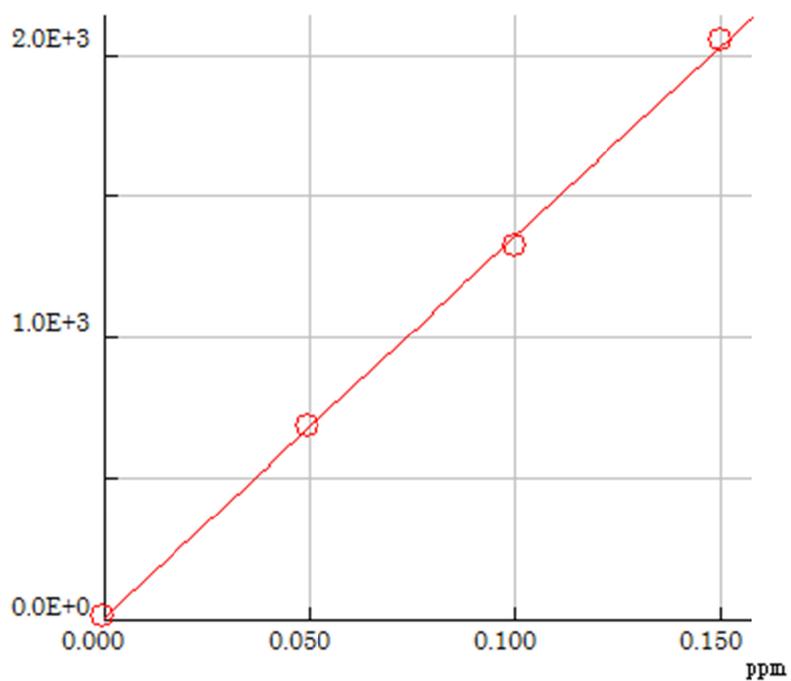


図 4. 製品 B の検量線. 式: 強度 = 13558 × 濃度 + 1.400.

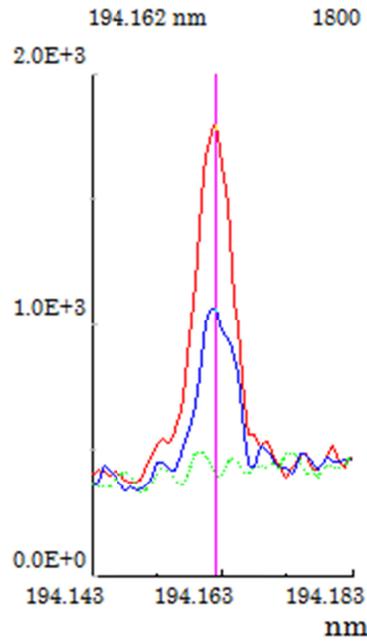


図 5. 製品 C の定量条件決定測定. 青線: 標準溶液, 緑線: ブランク, 赤線: 添加検液.

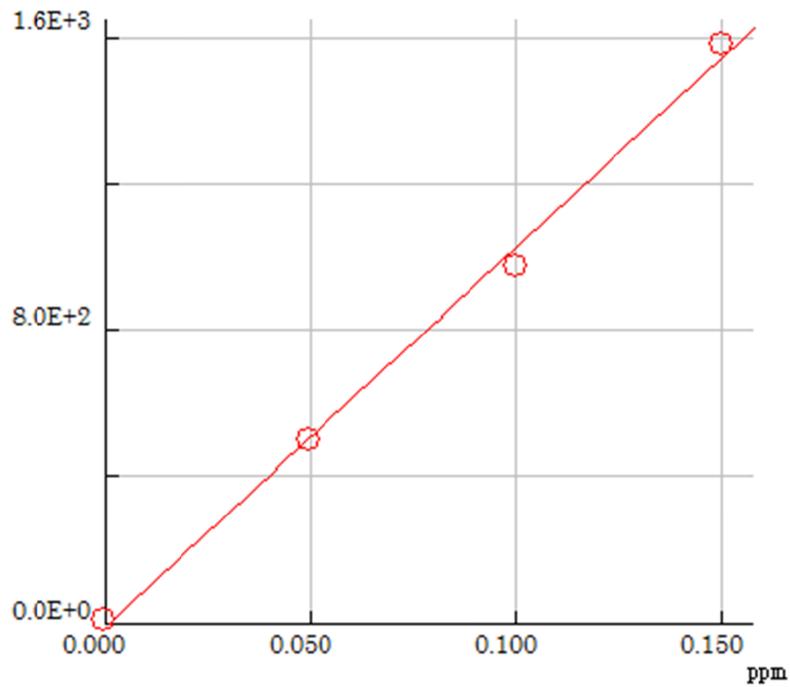


図 6. 製品 C の検量線. 式: 強度 = 10413 × 濃度 - 14.17.

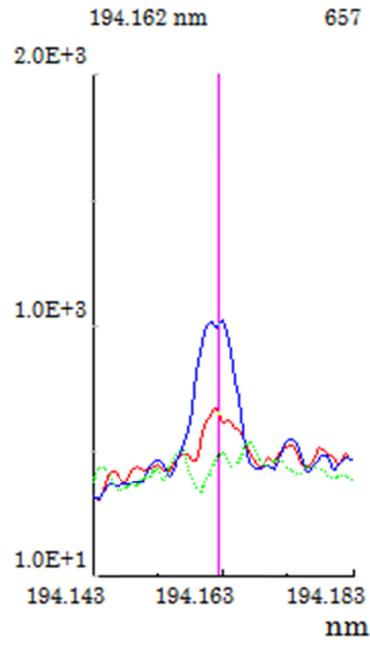


図 7. 製品 D の定量条件決定測定 . 青線 : 標準溶液 , 緑線 : ブランク , 赤線 : 添加検液 .

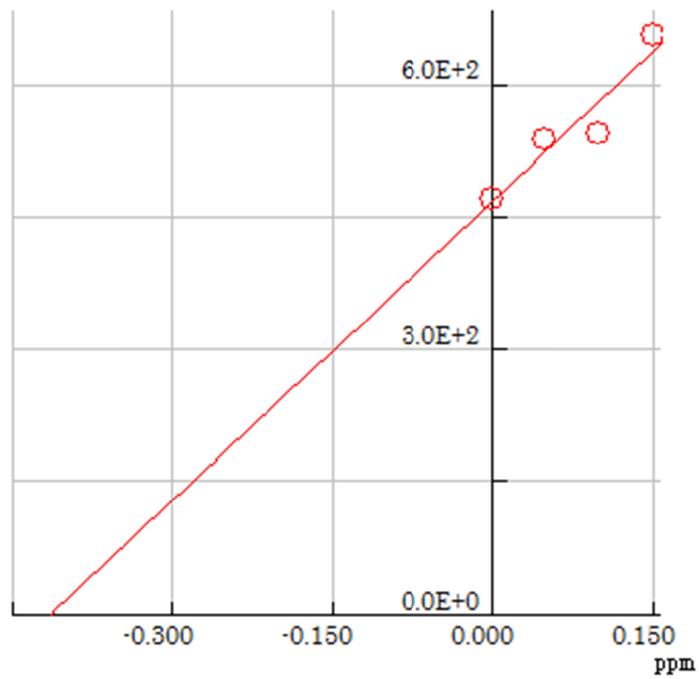


図 8. 製品 D の検量線 . 式 : 強度 = 1133 × 濃度 + 468.17 .

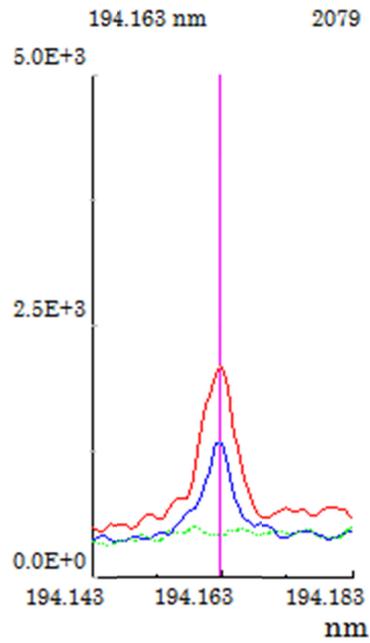


図 9 . 製品 E の定量条件決定測定 . 青線 : 標準溶液 , 緑線 : ブランク , 赤線 : 添加検液 .

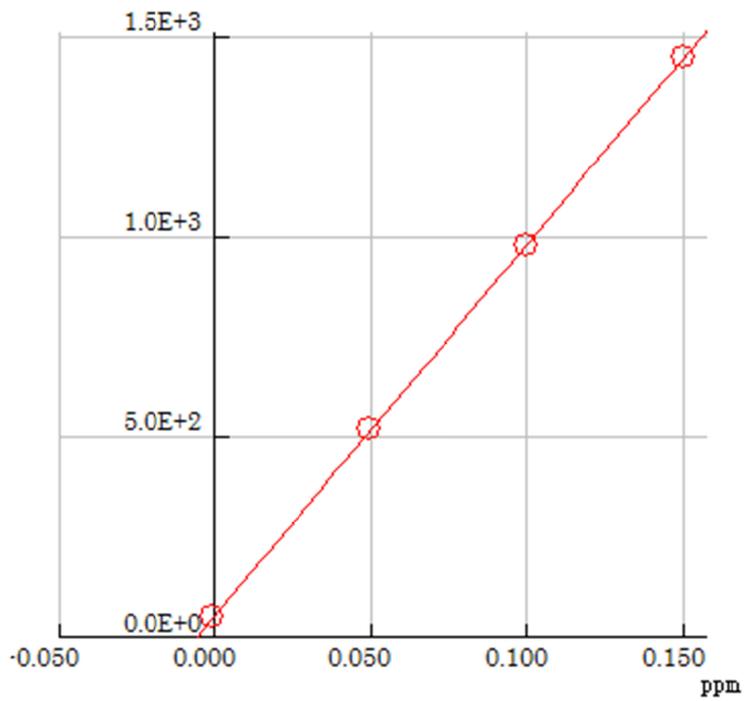


図 10 . 製品 E の検量線 . 式 : 強度 = 9347 × 濃度 + 48.23 .

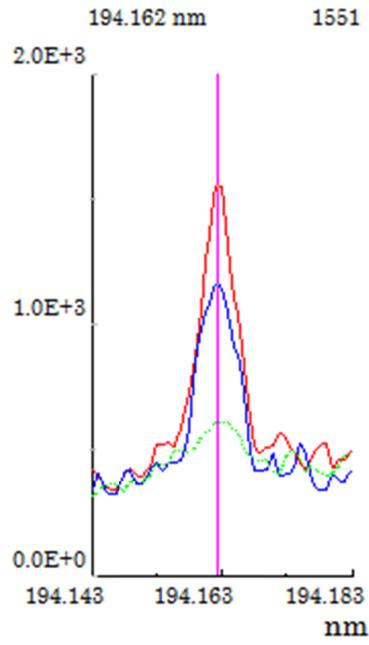


図 11. 製品 F の定量条件決定測定 . 青線 : 標準溶液 . 緑線 : ブランク . 赤線 : 添加検液 .

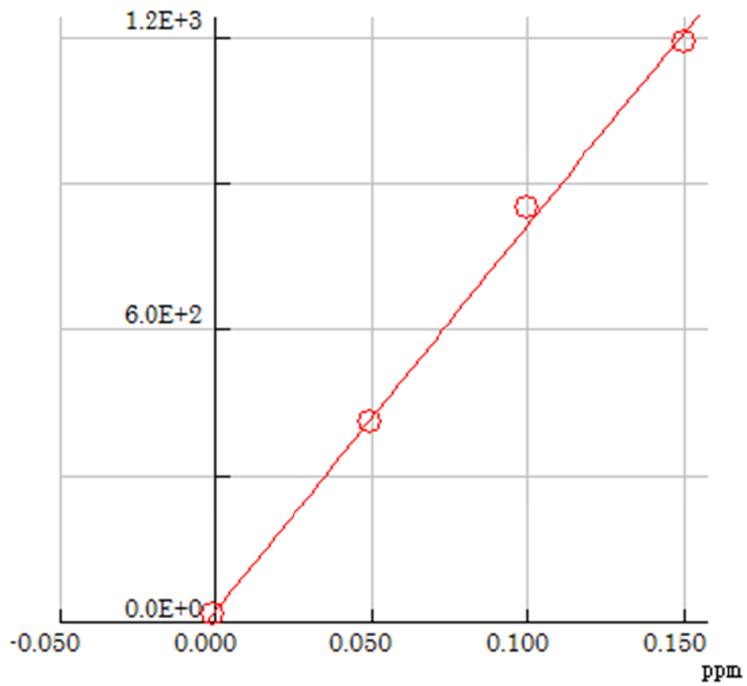


図 12. 製品 F の検量線 . 式 : 強度 = 7946 × 濃度 + 19.80 .

表5.6種の製品中の水銀濃度.

製品	検液中Hg濃度 (ppm)	製品中Hg濃度 (ppm)
A	0.0020	0.010
B	0.0001	0.001
C	0.0000	0.000
D	0.4131	2.066
E	0.0052	0.026
F	0.0025	0.013